

(19)日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-30962

(43)公開日 平成5年(1993)2月9日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 N 1/00	B	7236-4B		
// C 1 2 M 1/02	A	2104-4B		
1/36		2104-4B		
(C 1 2 N 1/00				
C 1 2 R 1:19)				

審査請求 未請求 請求項の数5(全 6 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願平3-214598

(22)出願日 平成3年(1991)7月31日

(71)出願人 000010087

東陶機器株式会社

福岡県北九州市小倉北区中島2丁目1番1号

(72)発明者 松下 幸之助

福岡県北九州市小倉北区中島2丁目1番1号 東陶機器株式会社内

(72)発明者 清水 康利

福岡県北九州市小倉北区中島2丁目1番1号 東陶機器株式会社内

(72)発明者 下寺 健一

福岡県北九州市小倉北区中島2丁目1番1号 東陶機器株式会社内

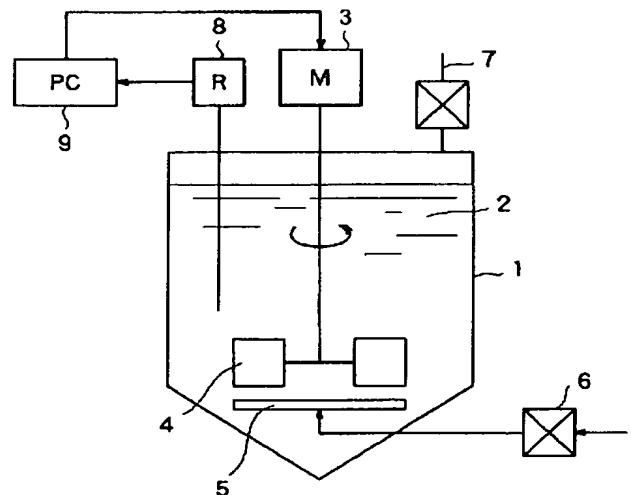
(74)代理人 弁理士 下田 容一郎 (外2名)

(54)【発明の名称】 微生物の培養方法

(57)【要約】

【目的】 微生物を破壊するに至らない剪断力の範囲で微生物懸濁液を攪拌する。

【構成】 培養装置の槽1内に微生物懸濁液2を満たし、この微生物懸濁液2をモータ3にて回転せしめられる攪拌機4にて攪拌するに際し、微生物懸濁液2の粘度をレオメータ8で測定し、このレオメータ8の測定値を制御装置9に入力し、制御装置9では測定粘度に基づき、モータ3にオン・オフ信号或いは回転数の制御信号を出力するようにしている。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 培養槽内の微生物懸濁液を攪拌機によって攪拌しつつ微生物を培養する方法において、前記微生物懸濁液に加えられる剪断応力を微生物懸濁液の粘度等の流動特性から算出し、この剪断応力が所定値を超えないように攪拌機の高回転数を制御するようにしたことを特徴とする微生物の培養方法。

【請求項2】 前記微生物は酵母であり、攪拌によって加えられる剪断応力は8,000N/m²を超えないように攪拌機の高回転数を制御するようにした請求項1に記載の微生物の培養方法。

【請求項3】 前記微生物は大腸菌であり、攪拌によって加えられる剪断応力は9,000N/m²を超えないように攪拌機の高回転数を制御するようにした請求項1に記載の微生物の培養方法。

【請求項4】 前記微生物は枯草菌であり、攪拌によって加えられる剪断応力は10,000N/m²を超えないように攪拌機の高回転数を制御するようにした請求項1に記載の微生物の培養方法。

【請求項5】 培養槽内の微生物懸濁液を攪拌機によって攪拌しつつ微生物を培養する方法において、前記微生物の剪断破壊量を測定し、この剪断破壊量が所定値を超えないように攪拌機の高回転数を制御するようにしたことを特徴とする微生物の培養方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は攪拌機を備えた培養槽内の微生物の培養方法に関する。

【0002】

【従来の技術】微生物に対し形質転換、遺伝子組換え或いは細胞融合を施すことで、有用物質を大量に生産し得る技術の研究が盛んである。特に微生物は動物や植物に比べ増殖速度が速く、死滅しにくいので有利である。

【0003】斯かる微生物の培養法としては、栄養源となる基質を含んだ培養液を槽内に入れ、更にこの培養液に微生物を投入した懸濁液を攪拌することで懸濁状態（微生物濃度）の均一化を図るとともに微生物と溶存酸素とを接触させて増殖を促進するようにしている。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】ところで、微生物懸濁液を攪拌すると剪断応力が発生し、この剪断応力が高いと微生物の細胞が破壊されてしまう。逆に攪拌しないと前記したように溶存酸素との接触が図れない等の不利が生じる。このため、微生物懸濁液に作用する剪断応力を所定範囲にして攪拌を継続することが必要となるが、個々の微生物によって剪断応力耐性値が異なり、そのコントロールが困難である。

【0005】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決すべく本願の第1発明は、微生物懸濁液に加えられる剪断応力を

微生物懸濁液の粘度等の流動特性から算出し、この剪断応力が個々の微生物に応じて設定した所定値を超えないように攪拌機の高回転数を制御するようにした。

【0006】また本願の第2発明は培養槽内の微生物の剪断破壊量を直接測定し、この剪断破壊量が所定値を超えないように攪拌機の高回転数を制御するようにした。

【0007】

【作用】培養槽中の微生物懸濁液に作用する剪断応力は、槽の大きさ、攪拌機の形式及び攪拌機の高回転速度によって決定される。そして、一旦培養槽を製作した後に剪断応力を制御できるパラメータは攪拌機の高回転速度のみとなる。そこで、剪断応力が所定値を超えないようにするには攪拌機の高回転数を制御すればよいことになる。

【0008】

【実施例】以下に本発明の実施例を添付図面に基づいて説明する。ここで、図1は本願の第1発明に係る培養方法の実施に用いる培養装置の概略図であり、培養装置は槽1内に微生物を混入した培養液すなわち微生物懸濁液2を満たし、この微生物懸濁液2をモータ3にて回転せしめられる攪拌機4にて攪拌するようにしている。

【0009】また、槽1の底部には多孔質なガス供給プレート5を配置し、フィルタ6及びガス供給プレート5を介して外部から酸素ガス等を微生物懸濁液2に供給するようにし、槽1の上部にはフィルタを備えたガス抜きパイプ7を設け、更に微生物懸濁液2の粘度をレオメータ8で測定し、このレオメータ8の測定値を制御装置9に入力し、制御装置9では測定粘度に基づき、モータ3にオン・オフ信号或いは高回転数の制御信号を出力するようにしている。

【0010】図2はモータの高回転数を粘度に応じて変化せしめた本発明方法と一定の高回転数とした従来の培養法とを菌体濃度と生成物濃度において比較したものである。菌体としてはMicromonospora olivasterospora (KY-11587)を用い、この菌体からアミノグロシド系抗生物質であるフォーチミン-Aを生成するものとする。

【0011】上記のフォーチミン-Aの生成の条件は、槽1を100リットル、攪拌翼は1段式6枚タービン羽根とし、攪拌翼の長さを280mm、高さを60mm、攪拌翼の長さ/槽径=0.51とし、運転液量は80リットルで運転量当りの通気量は0.7vvmとした。

【0012】そして、本発明方法の実施においては培養開始とともに菌体濃度は上昇し、それによってもって粘度も上昇した。特に粘度は培養開始の1cpから培養開始後10時間で600cpと大巾に増加したので、剪断応力による微生物の破壊を防ぐために攪拌機4の高回転数を当初の600rpmから2時間後に500rpm、6時間後に400rpm、8時間後に200rpmに変更した。

【0013】培養結果は本発明方法による場合は培養開始後10時間で菌体濃度が最大値の7.4×10⁷cells

/mlとなり、成生物であるフォーチミン-Aの培養液中での濃度は354mg/lであった。一方、従来法による場合は菌体濃度の最大値は 6.0×10^7 cells/mlで、フォーチミン-Aの培養液中での濃度は290mg/lで収率は本発明方法の82%でしかなかった。

【0014】図3～図5はそれぞれ酵母、大腸菌及び枯草菌に対する剪断応力と破壊率との関係についての実験結果を示すグラフである。これらのグラフから微生物の剪断応力に対する耐性値は個々の微生物毎に異なり、酵母は 1.3 kN/m^2 、大腸菌は 2.2 kN/m^2 、枯草菌は 3.0 kN/m^2 が剪断応力耐性値であることが判明した。

【0015】また、微生物の培養においては少なくとも剪断力は破壊率が50%以下となるものでなければならない。このことを考慮すれば、酵母については撹拌によって加えられる剪断応力が $8,000 \text{ N/m}^2$ を超えないように、大腸菌については撹拌によって加えられる剪断応力が $9,000 \text{ N/m}^2$ を超えないように、また枯草菌については撹拌によって加えられる剪断応力が $10,000 \text{ N/m}^2$ を超えないように撹拌機の回転数を制御すべきである。

【0016】図6は第2発明に係る培養方法の実施に用いる培養装置の概略図であり、この培養装置にあつては前記第1発明ではレオメータ8を用いて微生物懸濁液の粘度を測定し、この粘度から剪断応力を算出し、剪断応力と破壊率との関係から撹拌機の回転数を制御するようにしていたが、この第2発明にあつては酵素等を組込んだ検出器10で直接微生物の破壊量を測定し、この測定*

*値を制御装置9に入力してモータ3を制御するようにしている。このようにした場合、第1発明の方法よりも対応に遅れが多少生じるが正確な制御が可能になる。

【0017】

【発明の効果】以上に説明した如く本発明によれば、培養槽内に設けられる撹拌機の回転数を、微生物に対する剪断応力が所定値を超えないようにしたので、微生物の増殖を効果的に行なうことができ、特に当該剪断応力を微生物懸濁液の粘度から算出するようにすれば、制御遅れもなく、微生物増殖の自動運転が可能となる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本願の第1発明に係る培養方法の実施に用いる培養装置の概略図

【図2】本発明方法と従来法によって菌株を培養した場合の培養時間と菌体濃度、微生物懸濁液の粘度、撹拌機の回転数、生成物濃度との関係を示すグラフ

【図3】酵母に対する剪断応力と破壊率との関係を示すグラフ

【図4】大腸菌に対する剪断応力と破壊率との関係を示すグラフ

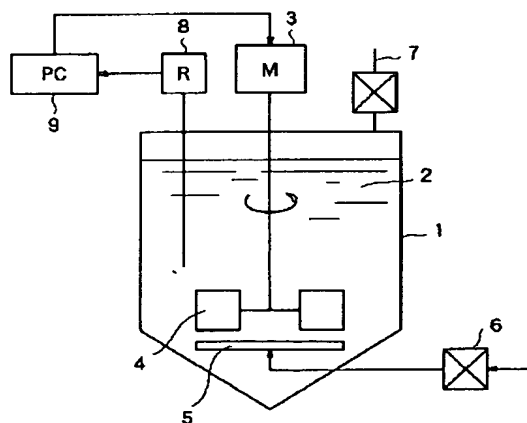
【図5】枯草菌に対する剪断応力と破壊率との関係を示すグラフ

【図6】本願の第2発明に係る培養方法の実施に用いる培養装置の概略図

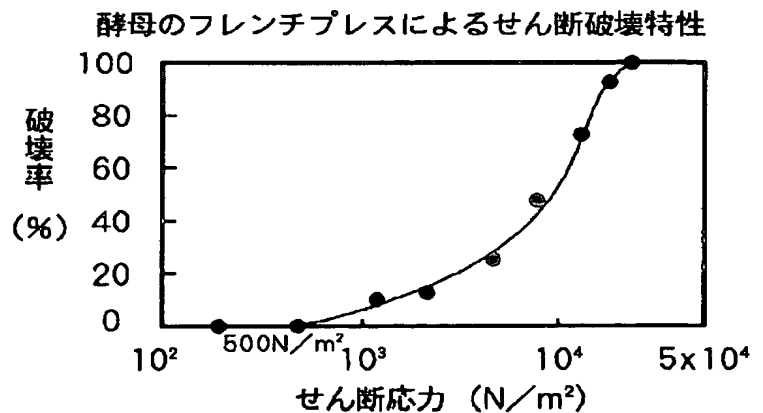
【符号の説明】

1…槽、2…微生物懸濁液、3…モータ、4…撹拌機、8…レオメータ、9…制御装置。

【図1】

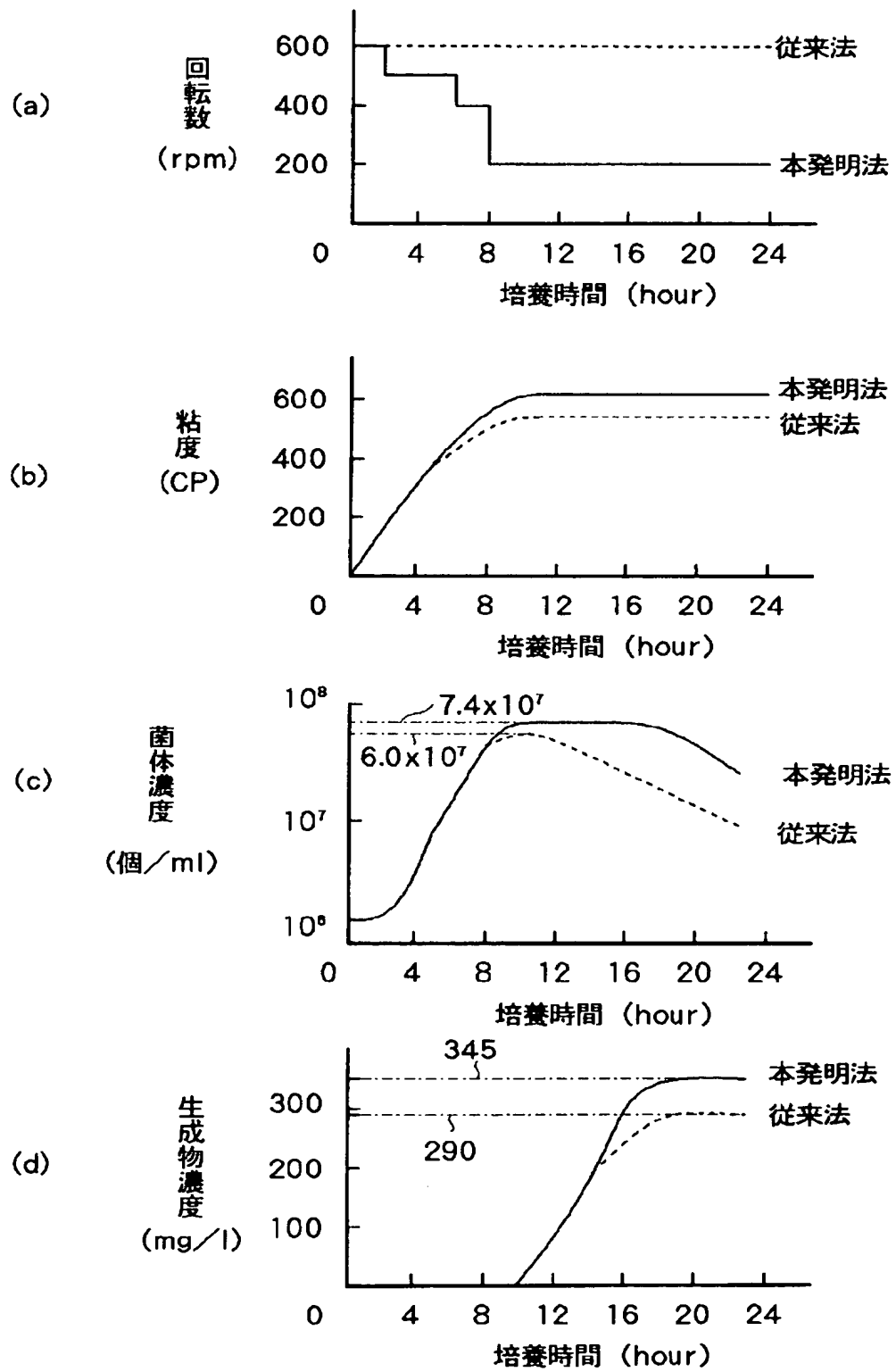


【図3】

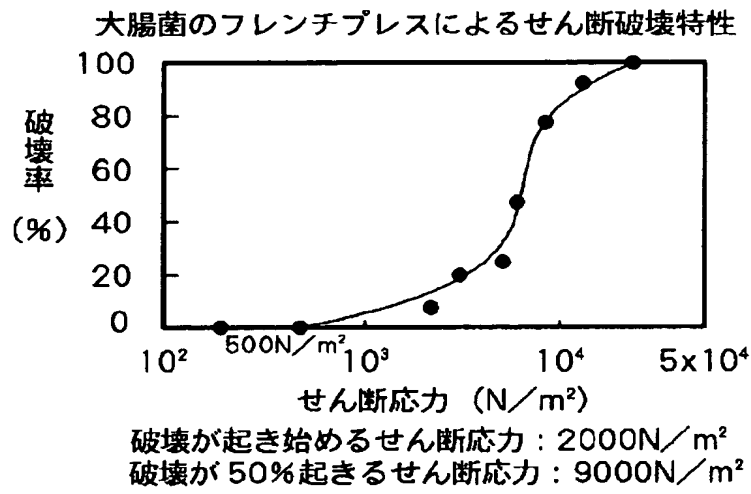


破壊が起き始めるせん断応力： 1000 N/m^2
破壊が50%起きるせん断応力： 8000 N/m^2

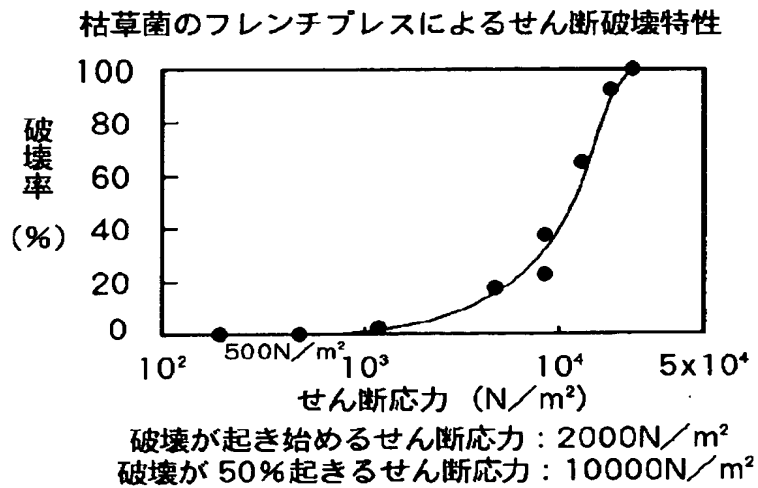
【図2】



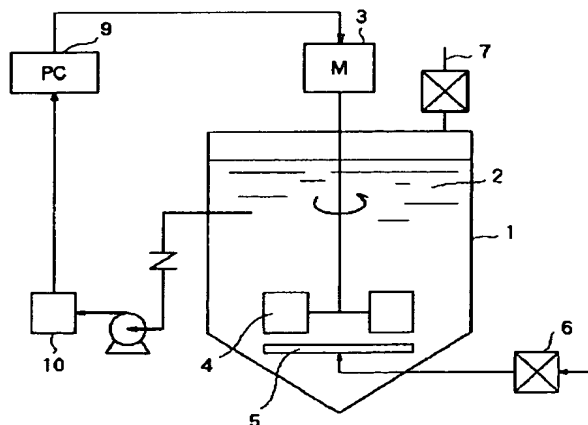
【図4】



【図5】



【図6】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. ⁵

(C 1 2 N 1/00

C 1 2 R 1:125)

識別記号

庁内整理番号

F I

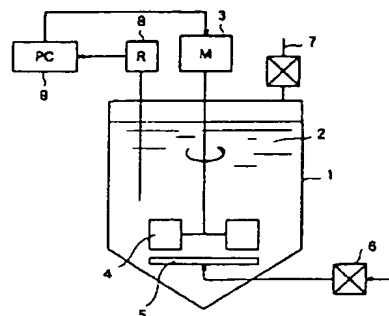
技術表示箇所

(54) METHOD FOR CULTURING MICROORGANISM

(11) 5-30962 (A) (43) 9.2.1993 (3) JP
(21) Appl. No. 3-214598 (22) 31.7.1991
(71) TOTO LTD (72) KONOSUKE MATSUSHITA(2)
(51) Int. Cl⁵. C12N1/00//C12M1/02,C12M1/36(C12N1/00,C12R1/19)(C12N1/00,C12R1/125)

PURPOSE: To stir a microbial suspension under a shearing force within the range so as not result in destruction of microorganisms.

CONSTITUTION: A microbial suspension 2 is filled in a vessel 1 of an apparatus for culture and then stirred with a stirrer 4 rotated with a motor 3. In the process, the viscosity of the microbial suspension 2 is measured with a rheometer 8. Measured values of the rheometer 8 are then inputted to a controller 9, where ON-OFF signals or control signals of the number of revolutions are outputted to the motor 3 based on the measured viscosity.

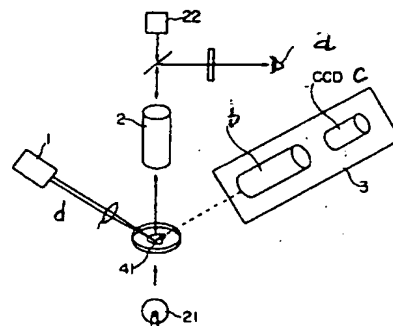


(54) METHOD FOR FRACTIONATING CELLULAR STRAIN

(11) 5-30963 (A) (43) 9.2.1993 (19) JP
(21) Appl. No. 3-189020 (22) 29.7.1991
(71) HAMAMATSU PHOTONICS K.K. (72) AKIHIKO TSUJI(1)
(51) Int. Cl⁵. C12N1/00,C12M1/34,C12N13/00

PURPOSE: To fractionate a normal strain from a variant strain of cells by measuring the decay rate of fluorescence emitted from the cells.

CONSTITUTION: A cell population collected from a living body is separated into individual cells and two kinds of fluorescent reagents are then taken into the cells 41 at a prescribed interval. The separated cells 41 are subsequently irradiated with a high-speed pulsed laser beam from a high-speed pulsed laser beam source 1. The decay rate of the fluorescence emitted from the cells is measured with a synchro-scan streak camera 3 to fractionate a normal strain from a variant strain based on a change in the decay rate.



a: observer, b: streak tube, c: camera, d: concentrating lens

(54) NEW MICROORGANISM, HERBICIDE CONTAINING THE SAME MICROORGANISM AND METHOD FOR CONTROLLING WEED WITH THE SAME

(11) 5-30964 (A) (43) 9.2.1993 (19) JP
(21) Appl. No. 3-298568 (22) 29.8.1991 (33) JP (31) 90p.228299 (32) 31.8.1990
(71) JAPAN TOBACCO INC (72) SHIGEKI IMAIZUMI(3)
(51) Int. Cl⁵. C12N1/14,A01N63/00/(C12N1/14,C12R1/645)

PURPOSE: To obtain a new microorganism, capable of selectively exhibiting pathogenicity for water chestnut which is a weed in paddy field and controlling the water chestnut without affecting crops such as rice plant and further useful as a herbicide without polluting and destroying environment.

CONSTITUTION: Sporidesmium scirpicola K-004 (FERM P-11495). The aforementioned microorganism is obtained by separating a strain having pathogenicity for water chestnut from the diseased water chestnut, purely culturing the strain and separating a strain excellent in controlling effects on the water chestnut.